

PRÉVALENCE DES DIFFÉRENTES ESPÈCES DE CANDIDA AU NIVEAU VAGINAL DANS LA RÉGION LIÉGEOISE

J.M. SENTERRE (1), M. CARPENTIER (2), J.M. FOIDART (3)

RÉSUMÉ : Nous avons calculé les prévalences des différentes espèces de levures isolées dans plus de 20.000 prélèvements vulvo-vaginaux au laboratoire du CHR de la Citadelle de Liège au cours des six dernières années. Pour vérifier la pertinence des fréquences relatives observées, nous avons confronté les résultats des cultures de 149 prélèvements avec une technique d'identification des levures par une technique de PCR en temps réel. Avec près de 90% de prévalence, *Candida albicans* reste l'espèce largement dominante. Contrairement à d'autres équipes, nous n'observons pas d'augmentation des candida non-albicans.

MOTS-CLÉS : *Candidiase vulvo-vaginale – Épidémiologie*

VULVOVAGINAL CANDIDIASIS : PREVALENCE OF DIFFERENT CANDIDA SPECIES IN THE LIEGE REGION

SUMMARY : We calculated the prevalences of different yeast species isolated from more than 20,000 vulvovaginal specimens carried out at the CHR hospital in Liege. To assess the value of the observed relative frequencies, the culture results of 149 samples were confronted with those of a real-time PCR technique of fungal identification. With a prevalence close to 90%, *Candida albicans* remains the largely dominant species. In contrast with other teams, we observed no increase of the prevalences of *Candida non-albicans* species.

KEYWORDS : *Vulvovaginal candidiasis - Epidemiology*

INTRODUCTION

La vulvo-vaginite à *Candida* est une pathologie fréquente. Plus de septante pour cent des femmes feront au moins un épisode de vaginite à *Candida* au cours de leur vie. Plus de cinq pour cent souffrent de candidose vaginale récidivante, caractérisée par plus de quatre épisodes par an. Vingt à trente pour cent des patientes sont des porteuses asymptomatiques (1). La symptomatologie clinique ne permet pas de faire la distinction avec d'autres pathologies (2). L'examen direct permet, au mieux, un diagnostic dans septante pour cent des cas. Seule la culture permet d'identifier l'espèce responsable. Depuis quelques années, une augmentation de la prévalence des candida non-albicans est suspectée dans les prélèvements génitaux (3-5). Ces espèces sont généralement moins sensibles aux

antifongiques. Cette tendance pourrait conduire à des échecs thérapeutiques, particulièrement en cas de traitement par des dérivés triazolés (Fluconazole, Itraconazole). De nos jours, la plupart des laboratoires utilisent des milieux contenant des substrats chromogéniques (6) pour isoler et identifier les différentes espèces de *Candida* sur base de leur couleur (fig 1). Ces techniques peu onéreuses, permettent d'identifier rapidement les espèces les plus courantes (*C. albicans*, *tropicalis*, *krusei* et autres *Candida*). La distinction n'est malheureusement pas toujours aisée pour les autres espèces, telles que *C. glabrata* et *parapsilosis*. Or, c'est précisément le *C. glabrata* qui serait en augmentation. Pour des questions de coût, les laboratoires recourent rarement aux galeries d'identification basées sur les propriétés biochimiques pour identifier les espèces de façon précise. Les antifongogrammes, tels que réalisés en routine, ont peu de valeur et ne sont pas standardisés (7, 8). Le traitement est donc la plupart du temps empirique.

Dans ce contexte, nous avons voulu savoir si la prévalence des *Candida non albicans* était en augmentation dans la région Liégeoise. Nous avons effectué le relevé des prévalences des différentes levures isolées dans les prélèvements vulvo-vaginaux au laboratoire du CHR de la Citadelle au cours des six dernières années (Tableau I). Pour vérifier la pertinence des fréquences relatives observées (Tableau II), nous avons confronté les résultats des cultures de 149

TABLEAU I : PRÉVALENCE DES LEVURES DANS LES PRÉLÈVEMENTS VAGINAUX AU CHR DE LA CITADELLE (1999 – 2004)

| | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 |
|---|----------------|----------------|----------------|--------------|----------------|----------------|
| Nombre de prélèvements | 3851 | 3556 | 3046 | 3610 | 2845 | 3253 |
| Prévalence des levures | 638 (16.6%) | 580 (16.3%) | 576 (18.9%) | 533 (15%) | 453 (15.9%) | 574 (17.6%) |
| Pourcentage de doublons* | 9.6% | 4.8% | 5.0% | 5.1% | 5.7% | 9.5% |
| Prévalence des levures sans doublons | 577 (15.2%) | 552 (15.6%) | 547 (18%) | 506 (14%) | 427 (15%) | 544 (17.7%) |

* Doublon: 2 prélèvements de la même patiente à plus d'un mois d'intervalle. Si l'espèce de levure était identique, les prélèvements effectués au cours d'une période de 30 jours chez une patiente n'ont été comptés qu'une seule fois

TABLEAU II : PRÉVALENCE DES DIFFÉRENTES ESPÈCES DE LEVURES

| | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 |
|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <i>C. albicans</i> | 87.5 % | 88.4 % | 91.4 % | 89.7 % | 92.5 % | 91.5 % |
| <i>C. glabrata</i> | 9.2 % | 9.1 % | 6.6 % | 8.1 % | 5.3 % | 6.3 % |
| <i>C. Tropicalis</i> | 0.7 % | 0.2 % | 0.2 % | 0.6 % | 0.7 % | 0.9 % |
| <i>C. parapsilosis</i> | 0.2 % | 0.4 % | 0.4 % | 0.0 % | 0.2 % | 0.0 % |
| <i>C. krusei</i> | 0.2 % | 0.2 % | 0.8 % | 0.4 % | 0.0 % | 1.1 % |
| Autres | 2.2 % | 1.6 % | 0.6 % | 1.2 % | 1.3 % | 0.2 % |

(1) Chef de Service adjoint, Service de biologie clinique

(2) Microbiologiste, Service de Biologie Clinique,

(3) Professeur ordinaire, Service de Gynécologie-Obstétrique, CHR de la Citadelle, Liège

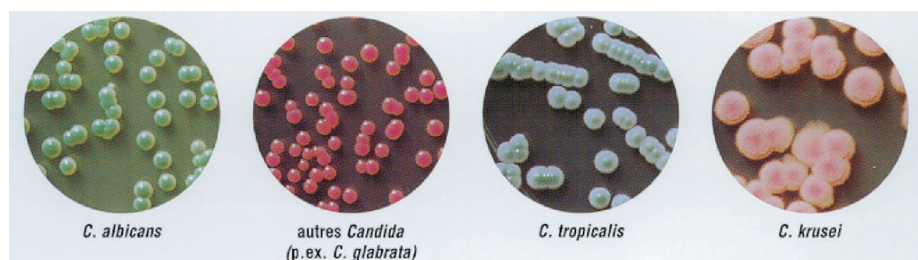


Fig. 1 : Exemple de milieu chromogénique pour l'identification des candida (BBL™ CHROMagar™ Candida)

prélèvements avec une technique d'identification des levures par une technique de PCR en temps réel.

Notre épidémiologie locale montre que la prévalence des levures et la répartition des différentes espèces restent constantes sur les six années.

ANALYSE DES 149 ÉCHANTILLONS

MATÉRIEL ET MÉTHODE

En collaboration avec le service de gynécologie-obstétrique de l'Université de Liège, nous avons obtenus cent quarante neuf frottis vaginaux prélevés chez des patientes âgées de quinze à quarante cinq ans. Les femmes enceintes ont été exclues. Les prélèvements ont été effectués avec un double écouvillon. Un écouvillon a servi à la culture et l'autre pour la PCR. La culture a été effectuée sur des milieux classiques et un milieu contenant des substrats chromogéniques (CHROMagar™). Pour la PCR en temps réel, nous avons utilisé un protocole de la littérature (9). Une amorce et la sonde du *C. tropicalis* ont été modifiées. Cette technique d'amplification moléculaire permet la détection en temps réel des amplicons au moyen de sondes spécifiques marquées par des fluorophores émettant à des longueurs d'ondes différentes. Plus la détection du signal est précoce et plus le nombre de copies du pathogène ciblé est important. Les PCR ont été validées en mode multiplex. Des témoins positifs et négatifs, ainsi qu'un contrôle d'inhibition ont été systématiquement réalisés. L'ADN a été extrait après validation d'un protocole sur un automate (COBAS AmpliPrep™).

TABEAU III : RÉSULTATS

| Echantillons N = 149 | PCR positive | PCR négative |
|----------------------|--------------|--------------|
| Culture positive | 35 | 1* |
| Culture négative | 14** | 100 |

*1 souche de *C. albicans* non reconnue par la PCR
 ** 8 cultures positives après réisolement sur CHROMagar⁺ à partir de la boîte de départ. Nombre peu élevé de copies du gène de la levure.

Toute PCR positive associée à une culture positive est considérée comme vraie positive. En cas de discordance entre la culture et la PCR, un résultat est considéré comme vrai positif, soit si la PCR est contrôlée positive en présence d'une culture négative, soit si, en présence d'une PCR négative, la culture est confirmée positive par repiquage sur milieu CHROMagar™.

Nous obtenons cinquante échantillons positifs, soit une prévalence de 33,6% (Tableau III). A noter que, par la culture classique, la prévalence est de 24,2%. Ce pourcentage est plus élevé que les 15,6% observés en moyenne sur les 6 dernières années. La différence provient certainement du nombre limité d'échantillons testés. Les six échantillons PCR positive/culture négative contiennent très peu de copies du gène de la levure. La PCR négative est peut-être due à la présence de *C. dubliniensis* morphologiquement très semblable au *C. albicans*, mais non reconnu par notre PCR. Quatre échantillons contiennent deux espèces de *Candida*. Trois d'entre eux n'ont été identifiés que par la PCR (Tableau IV).

EN PRATIQUE

La sensibilité de la PCR est supérieure à celle de la culture. Cette technique n'est pas applicable en routine compte tenu de son coût. Les discordances se manifestent lorsque le nombre de levures présentes est faible, ce qui doit avoir peu d'implication clinique.

Les techniques de routine utilisées au laboratoire ne permettent pas une identification irréprochable des différentes espèces de *Candida*. Néanmoins, les pourcentages relatifs des différentes espèces de *Candida* obtenus par PCR sont

TABEAU IV : EXACTITUDE DE L'IDENTIFICATION

| Discordances | Identification sur culture | Identification par PCR |
|--------------|--|---|
| 1 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> |
| 1 | <i>C. glabrata</i> | <i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> |
| 1 | <i>C. albicans</i> | <i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i> |
| 1 | <i>C. tropicalis</i> + <i>C. krusei</i> | <i>C. albicans</i> + <i>C. krusei</i> |
| 1 | <i>C. species</i> (non identifiable sur CHROMagar ⁺) | <i>C. albicans</i> |

TABLEAU V : FRÉQUENCES RELATIVES DES DIFFÉRENTES ESPÈCES DE CANDIDA

| Résultats positifs N =53 | Résultats de l'étude (%) | Moyenne CHR 1999-2004 (%) |
|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|
| Candida albicans | 86.8 | 90,2 |
| C.glabrata | 9.4 | 7,4 |
| C. parapsilosis | 1.9 | 0,2 |
| C. tropicalis | 0 | 0,6 |
| C. krusei | 1.9 | 0,5 |
| Autres | / | 1,2 |

forts proches de nos données épidémiologiques (Tableau V). Nous pouvons donc estimer que les données du laboratoire sont le reflet de la prévalence réelle des différentes espèces de Candida.

CONCLUSION

Contrairement à la tendance relevée par certaines équipes, nous n'observons pas de modification des prévalences des différentes espèces de levures dans les prélèvements vaginaux sur ces six dernières années.

Même en tenant compte des limites de nos données, le Candida albicans reste l'espèce largement dominante dans près de 90% des cas. Le Candida glabrata et les autres espèces de Candida représentent environ 10% des cultures. Dans ces conditions, il n'y a pas lieu de croire aujourd'hui à une diminution d'efficacité des antifongiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Sobel JD, Faro S, Force R., et al.— Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am J Obstet Gynecol*, 1998, **178**, 203-211
2. Landers DV, Wiesenfeld HC, Heine RP, et al.— Predictive value of the clinical diagnosis of lower genital tract infection in women. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, **190**, 1004-10.

3. Sobel JD.— Vulvovaginitis due to Candida glabrata. An emerging problem. *Mycoses*, 1998, **41**, 18-22.
4. Martens MG, Hoffman P, El-Zaatari M.— Fungal species changes in the female genital tract. *J Low Genit Tract Dis*, 2004, **8**, 21-4.
5. Bauters TG, Dhont MA, Temmerman MI, et al.— Prevalence of vulvovaginal candidiasis and susceptibility to fluconazole in women. *Am J Obstet Gynecol*, 2002, **187**, 569-74.
6. Pfaller MA, Houston A, Coffmann S.— Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei, and Candida (Torulopsis) glabrata. *J Clin Microbiol*, 1996, **34**, 58-61.
7. Vandenbossche I, Vaneechoutte M, Vandevenne M, et al.— Susceptibility testing of fluconazole by the NCCLS broth microdilution method, E-test, and disk diffusion for application in the routine laboratory. *J Clin Microbiol*, 2002, **40**, 918-21.
8. Sobel JD, Zervos M, Reed BD, et al.— Fluconazole susceptibility of vaginal isolates obtained from women with complicated Candida vaginitis : clinical implications. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, **47**, 34-8.
9. Mackay IM.— Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect*, 2004, **10**, 190-212.
10. Guiver M, Levi K, Oppenheim BA.— Rapid identification of candida species by TaqMan PCR. *J Clin Pathol*, 2001, **54**, 362-366

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Prof J.M.Senterre, Service de Biologie Clinique, CHR de la Citadelle, B-4000 Liège